



ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN SUELOS CONTAMINADOS POR METALES PESADOS Y SUS IMPLICACIONES COMO INDICADORES DE CALIDAD

AUTOR: JULIÁN LÁZARO CEBAS

TUTOR: ANTONIO L. LÓPEZ LA FUENTE

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE EDAFOLOGÍA

CURSO: 2014-2015

CONVOCATORIA: 14 de Julio

Introducción

El suelo es un recurso no renovable de vital importancia para biosfera que realiza funciones como el reciclaje de nutrientes y la descomposición de la materia orgánica. Estos procesos son llevados a cabo por las enzimas de la microbiota residente en el mismo. Las oxidoreductasas indican actividad metabólica microbiana total mientras que las hidrolasas están implicadas en el ciclo de los nutrientes esenciales. Ante la presencia de un contaminante como los metales pesados, tanto los microorganismos como sus enzimas se ven afectados negativamente, por lo que el análisis de la actividad enzimática del suelo puede utilizarse como indicador del grado de contaminación del mismo. Sin embargo existen múltiples factores (Dependientes del metal, de las enzimas, del suelo y de las plantas) que influyen en el grado de inhibición enzimática.

Las Enzimas Del Suelo Como Bioindicador

OXIDOREDUCTASAS	Sustrato	Producto	Localización	Importancia para el suelo	Información obtenida
Deshidrogenasa	Compuestos de carbono	Glucosa + CO ₂	Intracelular	Descomposición de materia orgánica	Abundancia y activ. metabólica de MO
Catalasa	H ₂ O ₂	H ₂ O + O ₂	Intracelular	Detoxificación de H ₂ O ₂	Abundancia y activ. metabólica de MO
HIDROLASAS	Sustrato	Producto	Localización	Importancia para el suelo	Información obtenida
Amilasa	Almidón	Glucosa y oligosacáridos	Extracelular	Glucosa disponible para MO y plantas	Ciclo del C
β-glucosidasa	Celulosa	Glucosa	Extracelular	Glucosa disponible para MO y plantas	Ciclo del C
Invertasa	Sacarosa	Glucosa + Fructosa	Intra/Extracelular	Glucosa disponible para MO y plantas	Ciclo del C
Ureasa	Urea	NH ₄ ⁺ (+) + CO ₂	Intra/Extracelular	Disponibilidad de N	Ciclo del N
Fosfatasa	Po	Pi anión PO ₄ ³⁻ (3-)	Extracelular	Disponibilidad de P	Ciclo del P
Sulfatasa	So	Si anión SO ₄ ²⁻ (2-)	Extracelular	Disponibilidad de S	Ciclo del S

Objetivos

- 1 Describir las enzimas más utilizadas en el análisis de suelos, su función biológica y las ventajas e inconvenientes de su uso como indicador de calidad de los suelos.
- 2 Exponer cómo afectan los metales pesados a la actividad enzimática del suelo en función de algunas características del mismo.
- 3 Hacer referencia a algunos de los casos recogidos en la bibliografía sobre suelos contaminados por metales pesados en territorio español.

Material y Métodos

Se realizó una búsqueda en PubMed y en Google Académico con los siguientes términos:

- Soil quality indicators, Soil enzyme activity, Heavy metals effect on enzyme activity in soil.

Tomando como base la revisión de A. Karaka et al., (2010), se buscaron artículos tanto en PubMed como en Google Académico con los siguientes términos:

- Effect enzyme activity heavy metals, organic matter effect enzyme activity heavy metals, clay effect enzyme activity heavy metals.



Ventajas



Inconvenientes



- ✓ Fuertemente ligadas a procesos esenciales para el funcionamiento del ecosistema.
- ✓ Cambia con mayor velocidad que los parámetros físico-químicos.
- ✓ Son fáciles de medir y existen un gran número de ensayos bien definidos.
- ✓ La medida de varias enzimas puede utilizarse como índice de fertilidad bioquímica del suelo.
- ✓ Los ensayos permiten conocer la potencialidad de un suelo para una actividad enzimática.

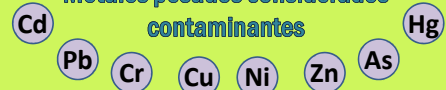
- ✓ La medida de una sola enzima no es representativa del estado del suelo.
- ✓ Sufren drásticas variaciones estacionales y espaciales.
- ✓ Varían en función de las características del suelo.
- ✓ Los análisis se realizan in vitro por lo que no reflejan las condiciones reales de campo.

Los Metales Pesados Inhiben Las Enzimas Del Suelo

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA INHIBICIÓN ENZIMÁTICA			
Dependientes del metal	Dependientes del enzima	Dependientes del suelo	Dependientes de las plantas
Tipo de elemento	Sensibilidad del enzima	pH	Acumulación del metal
Concentración	Tipo de inhibición	Materia orgánica	Comunidad de plantas
Biodisponibilidad	Variaciones estacionales	Contenido de arcilla	

Los metales pesados inhiben las enzimas del suelo, pero el grado de inhibición depende de múltiples factores. Por ello es necesario conocer como influye cada uno de ellos para poder interpretar los datos obtenidos del análisis enzimático en cada caso.

Metales pesados considerados contaminantes



Los Metales Pesados En Territorio Español

El suelo mediterráneo generalmente tiene un pH y contenido de carbonatos relativamente elevado así como un bajo contenido en materia orgánica. Estas características unidas a la reducida precipitación y la rápida evapotranspiración limita la movilidad de los metales pesados en estos suelos.



Durante los años 2001 y 2003 se realizó un estudio en España para conocer el contenido de metales pesados de los suelos de uso agrario y de pastos. Se analizaron 2700 parcelas.

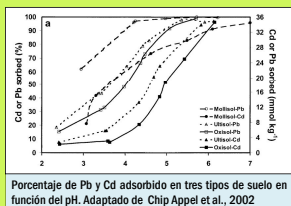
El estudio además realizó el análisis edáfico de algunas de las parcelas y se correlacionó con los datos obtenidos. El porcentaje de parcelas que cumplían con los límites marcados por la ley fue alto, pero otros estudios realizados por el departamento de edafología de la UCM ponen de manifiesto que estos límites deben establecerse en función de las características del suelo.

% de parcelas que cumplen el RD 1310/1990						
Cd	Cu	Cr	Hg	Ni	Pb	Zn
99,04	98,32	98,94	99,86	93,31	98,59	99,14

Porcentaje de parcelas estudiadas que cumplen la normativa del RD 1310/1990. Adaptado de López Arias, M. et al. (2005).

pH del suelo

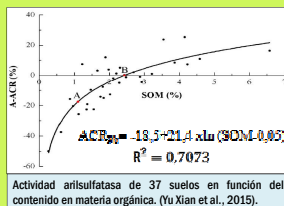
El pH influye en la movilidad del metal. Un incremento del Ph retiene los cationes metálicos al complejarlos, provocar su precipitación o aumentar su adsorción, lo que impide que entren en contacto con las enzimas. Además el pH también afecta a la estructura de las proteínas y a sus centros activos conformados por aminoácidos con carga como los ácido glutámico o aspártico.



Porcentaje de Pb y Cd adsorbido en tres tipos de suelo en función del pH. Adaptado de Chip Appel et al., 2002

Materia orgánica

La materia orgánica reduce la toxicidad de los metales pesados sobre las enzimas debido a que los grupos funcionales libres quelan los cationes metálicos. Un estudio mostró que la materia orgánica del suelo tenía efecto protector frente a los efectos del Pb. No obstante hay que ser cuidadoso al utilizar lodos de depuradora como fertilizante ya que estos contienen metales pesados.



Actividad arilsulfatasa de 37 suelos en función del contenido en materia orgánica. (Yu Xian et al., 2015).

Concentración del metal

Todos los metales pesados están presentes en pequeñas cantidades en el suelo. Algunos son micronutrientes esenciales como el Zn o el Co. Algunos estudios han observado que a bajas [Cd] y [Pb] se potencia la actividad enzimática, pero por regla general a mayor concentración de metal, mayor es la inhibición.

[Ion metálico] (nmol)	A. enzimática normalizada			
	Hg ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Co ²⁺
0	100	100	100	100
5	52,3	72,3	90,8	122,7
10	41,8	27,7	86,9	114
20	11,8	0,5	71,6	109,7
30	2,7	0,2	52,7	95,5

IC₅₀ para los tres tipos de suelo cultivados los 14 días de incubación. Los modelos utilizados para calcular la IC₅₀ pueden consultarse en Yang Gao et al., (2007). (DHA) Deshidrogenasa

Comunidad de plantas

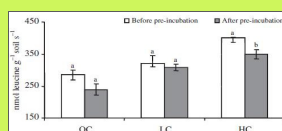
Suelo	Dosis Ecológica 50		
	Ureasa	DHA	Fosfatasa
Sin plantas	2248	545	3256
Monocultivo	3575	826	4545
Cultivo mixto	4984	1143	4954

IC₅₀ para los tres tipos de suelo cultivados los 14 días de incubación. Los modelos utilizados para calcular la IC₅₀ pueden consultarse en Yang Gao et al., (2007). (DHA) Deshidrogenasa

Una mayor diversidad de plantas produce una mayor diversidad de rizobacterias que liberan azúcares y aminoácidos al medio. A mayor diversidad de estos exudados mayor será la masa microbiana en el suelo incrementándose así la actividad enzimática.

Contenido y tipo de arcilla

La arcilla del suelo quela los cationes metálicos reduciendo su movilidad. También estabiliza las enzimas extracelulares lo que incrementa su actividad. El tipo de arcilla es importante ya que puede tener mayor o menor facilidad para retener al metal. En el estudio mostrado, la adición de allofanita incrementó la actividad de la proteasa, pero no logró inmovilizar al Cd.



Actividad proteasa en andosol forestal sin arcilla añadida (OC), con 5% de arcilla (LC) y con 10% de arcilla (HC). La medida antes de la incubación se tomó 5 h después de la adición de la arcilla y la medida después de la incubación se tomó a los 7 días. La adición de arcilla en poca cantidad incrementa la actividad proteasa 5 h después de su adición (F. Shahriari et al., (2010))

Conclusión

- 1 El análisis de la actividad enzimática del suelo constituye un método muy prometedor para la realización de estudios sobre la calidad del suelo ya que estas están íntimamente relacionadas con la actividad biológica mismo.
- 2 Su análisis proporciona información rápida sobre los cambios en el suelo y pueden medirse fácilmente. Sin embargo, no son un método perfecto y presentan una serie de limitaciones a la hora de determinar la salud del suelo que no pueden ser obviadas.
- 3 La actividad enzimática refleja la contaminación por metales pesados. Sin embargo, la inhibición no depende sólo del metal. Existen multitud de factores que influyen en la interacción metal-enzima lo que hace que sea prácticamente imposible hacer afirmaciones sobre cuál de ellos afecta más o menos a cada una de ellas.

Bibliografía

1. A. de Santiago-Martín, N. Chevillon, J. R. Quintana, C. González, A. L. Lafuente, C. Mougín. Metal Contamination Disturbs Biochemical and Microbial Properties of Calcareous Agricultural Soils of the Mediterranean Area. Arch Environ Contam Toxicol (2013) 64:388–398.
2. A. Karaka, S. C. Cetin, O. C. Turgay, R. Kizilcay. Soil heavy metals chapter 11: Effects of Heavy Metals on Soil Enzyme Activities. Springer Science & Business Media, 2010.
3. Adel Usman, Yakov Kuzakov, Karl Stahr. Effect of Clay Minerals on Immobilization of Heavy Metals and Microbial Activity in a Sewage Sludge-Contaminated Soil. JSS - J Soils & Sediments 5 (4) 245-252 (2005).
4. Alan J. Franzubbers and Richard L. Haney. Assessing soil quality in organic agriculture. USDA Agricultural Research Service, octubre de 2006.
5. C. Garbisu, J.M. Becerra, I. Etxebarri, I. Alkorta. Bioindicadores de la calidad del suelo: herramienta metodológica para la evaluación de la eficacia de un proceso fitoremediador. Ecosistemas 16 (2), 2007.
6. C. Mico, L. Recatalá, M. Peris, J. Sánchez. Assessing heavy metal sources in agricultural soils of a European Mediterranean area by multivariate analysis. Chemosphere 65 (2006) 863–872.
7. Chip Appel, Lena Ma. Concentration, pH, and Surface Charge Effects on Cadmium and Lead Sorption in Three Tropical Soils. J. Environ. Qual., Vol. 31, March–April 2002.
8. F. P. Jorge. Propiedades bioquímicas de suelos de prado de Galicia. Universidad de Santiago de Compostela, 2006.
9. Ferehtesh S., Tenno H., Kenji T. Effects of clay addition on soil protease activities in Andosols in the presence of cadmium. Soil Science and Plant Nutrition (2010) 56, 560–569.
10. I. Alkorta, A. Alzupura, P. Riga, I. Albizu, I. Amézaga, C. Garbisu. Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. Reviews on environmental health Vol. 18, No. 1, 2003.
11. P. Bhattacharyya, S. Tripathy, K. Kima, S. H. Kim. Arsenic fractions and enzyme activities in arsenic-contaminated soil by groundwater irrigation in West Bengal. Ecotoxicology & Environmental Safety 71 (2008), 22.
12. Raymond A. Wana, Felix E. Okonkwe. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. Vol. 2011 (2011), ID 402647.
13. S. K. Das, A. Varna. Soil Enzymology Chapter 2: Role of Enzymes in Maintaining Soil Health. Springer 2011.
14. S. Sethi, S. Gupta. Responses of soil enzymes to different heavy metals. Biolife vol. 3 Issue 1, 2015.
15. M. R. Albiach et al., (Grupo español de edafología del suelo). Sobre las enzimas del suelo y sus técnicas de medida. Edafología, Vol. 13, (3), PP 117-125, 2006.
16. P. Bhattacharyya, S. Tripathy, K. Kima, S. H. Kim. Arsenic fractions and enzyme activities in arsenic-contaminated soil by groundwater irrigation in West Bengal. Ecotoxicology & Environmental Safety 71 (2008), 22.
17. Yang G. et al., Effects of plant species coexistence on soil enzyme activities and soil microbial community structure under Cd and Pb combined pollution. Journal of Environmental Sciences 2010, 22 (7)
18. Yu Xian, Meile Wang, Weiping Chen. Quantitative assessment on soil enzyme activities of heavy metal contaminated soils with various soil properties. Chemosphere xxx 2015 xxx-xxx.